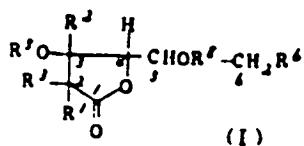


合物が商業的に量で提供されることが望ましい。

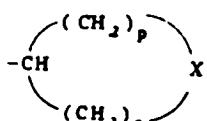
本発明は環状形成阻害および開環形形成活性を示す化合物を提供する。より詳しくは、本発明は(I)式で表わされる化合物およびその製造上許容される塩を提供する。



(式中、R¹およびR²は共に水素を表わすか、または2位と3位の炭素の間に二重結合を形成する。

R¹はOH、NH₂またはOR⁶を表わす。

R²は上記R¹はそれぞれ(C₁-C₂)アルキル、-CH₂(C₂-C₃)アルケニル、-CH₂(C₂-C₃)アルキニル、-(C₁-C₂)アルキル-X-(C₁-C₂)アルキル(XはO、CO、S、NH、N(C₁-C₂)アルキル、SOまたはSO₂を表わす)または

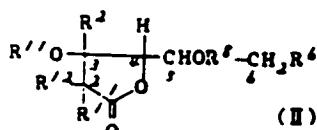


(Xは前記と同意義であり、pとqの合計は1~

エニルは前記と同意義を表わす)を表わす。但しR¹およびR²の少なくとも一方はHではない。)で表わされる基を表わす。)

本発明は、更に、

(a)下記式(II)



(R¹、R²、R⁴およびR⁶は前記と同意義である。R²はHまたはR¹(前記で定義)を表わし、R¹はOH、OR⁶(前記で定義)またはNH₂を表わす。但し、R²がH以外の場合はR¹はOHである。)で表わされる化合物を、式R⁶ZまたはR⁶Z(式中Zはp-トルソル、メシルまたは硫酸ジアルキル残基などのハロゲンまたはハロゲン根説離基を表わし、R⁶およびR¹は前記と同意義である)で表わされるアルキル化剤と、アルカリ金属低級アルカノレートなどの塩基の存在下に不活性溶媒中で反応させるか、または、

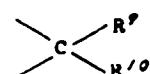
(b)R²がH以外であり、R¹がOR⁶を表わし、R²

II-58-131978 (4)

6である)で表わされる基から選ばれた基を表わし、このR¹およびR²は非置換かまたは1個もしくは2個の(C₁-Br、F、I、(C₁-C₂)アルコキシカルボニル、フェノキシ、OH、CF₃、(C₁-C₂)アルコキシ、ニトロ、-CH₂、-SO₂H、-PO₃H₂、(C₁-C₂)アルキルアミノまたはフタライドから選ばれた基で置換されているてもよい。

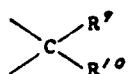
R⁴はH、F、またはOR⁷を表わす。

R¹およびR²はそれぞれH、(C₁-C₂)アルキルおよびベンジルから選ばれた基を表わすか、またはR¹およびR²が一緒になって式



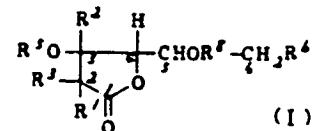
(式中、R⁹およびR¹⁰はそれぞれHを表わすか、ハロ、フェニルまたは置換フェニル(1個もしくは2個のハロ、ヒドロキシ、(C₁-C₂)アルコキシ、ニトロ、CF₃および(C₁-C₂)アルキルから選ばれた基で置換されているフェニル)で置換されているてもよい(C₁-C₁₀)アルキル基を表わすか、または、置換されているてもよいフェニル(置換フ

およびR⁹が一緒になって式



(式中、R⁹およびR¹⁰は前記と同意義である)で表わされる基を表わす(II)式の化合物を酸加水分解して(I)式で表わされる化合物(但しR¹およびR²は水素を表わす)を製造する方法も提供する。

本発明の別の側面は、医薬として用いる(I)式の化合物およびその製造上許容し得る塩を提供することである。

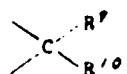


(式中、R¹およびR²は共に水素を表わすか、または2位と3位の炭素の間に二重結合を形成する。

R¹はOH、NH₂またはOR⁶を表わす。

R²およびR⁴はそれぞれ(C₁-C₂)アルキル、-CH₂(C₂-C₃)アルケニル、-(CHR'₃)_m-Y-R'₄(YはOから1、YはO、Sまたは単結合を表わす。R'₃はHまたは(C₁-C₂)アルキルおよび

およびベンゾラから選ばれた基を表わすか。また
R⁷HおよびR⁸が一結合になつて式

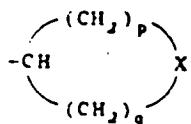


(式中、R⁸およびR¹⁰はそれぞれ、Hを表わすか。
ハロ、フェニルまたは置換フェニル(1個もしく
は2個のハロ、ヒドロキシ、(C₁-C₃)アルコト
シ、ニトロ、CF₃および(C₁-C₃)アルキルから
選ばれた基で置換されているフェニル)で置換さ
れていてもよい(C₁-C₃)アルキル基を表わすか。
または、置換されていてもよいフェニル(置換フェ
ニルは前記と同意義を表わす)を表わす。但し
R⁸およびR¹⁰の少なくとも一方はHではない。)
で表わされる基を表わす。)

本発明はまた、活性成分として(I)式の化合物
およびその製造上許容し得る塩を、ノル以上
の製
造上許容し得る賦形剤と共に含有する医薬組成物
により、具体化される。

(以下余白)

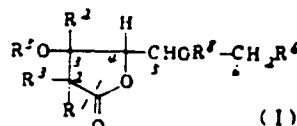
R'⁶は(C₁-C₃)シクロアルキル、(C₁-C₃)シ
クロアリケニル、(C₁-C₃)ビシクロアリケニル、
(C₁-C₃)ビンシクロアリケニルまたはアリールを
表わす)、-CH₂(C₁-C₃)アルキニル、-(C₁-C₃)₂
アルキル-X-(C₁-C₃)アルキル(XはO、CO、
S、NH、N(C₁-C₃)アルキル、SOまたはSO₂を
表わす)または



(Xは前記と同意義であり、pとqの合計は1～
6である)で表わされる基から選ばれた基を表わ
し、このR⁶およびR⁷は非置換かまたは1個もしく
は2個のCl、Br、F、I、(C₁-C₃)アルコキシカル
ボニル、フェノキシ、OH、CF₃、(C₁-C₃)アルコ
キシ、ニトロ、-CN、-SO₃H、-PO₃H₂、ジ(C₁-
C₃)アルキルアミノまたはフタルイミドから選
ばれた基で置換されていてもよい。

R⁶はH、F、またはOR⁷を表わす。

R⁷およびR⁸はそれぞれH、(C₁-C₃)アルキル

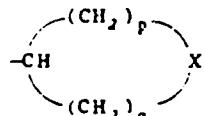


(式中、R⁸およびR⁹は共に水素を表わすか、または
は、2位と3位の炭素の間に二重結合を形成する。

R³はOH、NH₂またはOR⁶を表わす。

R⁶およびR⁷はそれぞれ(C₁-C₃)アルキル、
-CH₂(C₁-C₃)アルケニル、-(CHR'³)₂-Y-R'⁴
(YはOから1/2、YはO、Sまたは単結合を表
わす)、R'³はHまたは(C₁-C₃)アルキルおよび
R'⁴は(C₁-C₃)シクロアルキル、(C₁-C₃)シ
クロアルケニル、(C₁-C₃)ビシクロアルキル、
(C₁-C₃)ビシクロアルケニルまたはアリールを
表わす)、-CH₂(C₁-C₃)アルキニル、-(C₁-
C₃)₂アルキル-X-(C₁-C₃)アルキル(Xは
O、CO、S、NH、N(C₁-C₃)アルキル、SOまたは
SO₂を表わす)または

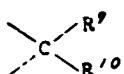
(以下余白)



(Xは前記と同意義であり、pとqの合計は1～
6である)で表わされる基から選ばれた基を表わ
し、このR⁶およびR⁷は非置換かまたは1個もしく
は2個のCl、Br、F、I、(C₁-C₃)アルコキシカル
ボニル、フェノキシ、OH、CF₃、(C₁-C₃)アルコ
キシ、ニトロ、-CN、-SO₃H、-PO₃H₂、ジ(C₁-
C₃)アルキルアミノまたはフタルイミドから選
ばれた基で置換されていてもよい。

R⁶はH、F、またはOR⁷を表わす。

R⁷およびR⁸はそれぞれH、(C₁-C₃)アルキル
およびベンジルから選ばれた基を表わすか、また
はR⁷およびR⁸が一結合になつて式



(式中、R⁸およびR¹⁰はそれぞれ、Hを表わすか。
ハロ、フェニルまたは置換フェニル(1個もしく
は2個のハロ、ヒドロキシ、(C₁-C₃)アルコキ

レーニトロ、 C_6^1 および($C_6^1-C_6^2$)アヘキルから選ばれた基で置換されているフェニル)で置換されてもよい($C_6^1-C_6^2$)アレチル基を表わすがまたは、置換されてもよいフェニル(置換フェニルは前記と同意義を表わす)を表わす。但し R' および R'^2 の少なくとも一方はHではない。)で表わされる基を表わす。)

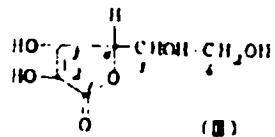
(I)式において、2位と3位の炭素の間に二重結合を形成し R' がOHである化合物は、アスコルビン酸またはイソアスコルビン酸のエーテル類を表わす。 R' と R'^2 が共に水素であり R' がOHである化合物は、ジヒドロアスコルビン酸またはジヒドロイソアスコルビン酸のエーテル類を表わす。2位と3位の炭素の間に二重結合を形成し、 R' が NH_2 、 R'^2 がOHを表わす化合物はスコルバミン酸(scorbic acid)のエーテル類を表わす。2位と3位の炭素の間に二重結合を形成し、 R' がHまたはFを表わす化合物は、デオキシアスコルビン酸のエーテル類を表わす。

アスコルビン酸およびイソアスコルビン酸は

称され、L-グロフラノーズの誘導体である。同様に、D-アスコルビン酸はD-グロフラノーズの誘導体である。イノアスコルビン酸はグルコフラノーズの誘導体である。上記(I)式の4つの化合物は、体系的に2-オキソ-3- α -ヒドロキシ-5-(1,2-ジヒドロキシエチル)-2,5-ジヒドロフランの誘導体として命名できる。即ち、L-アスコルビン酸ならば、 $C_6(R)C_6(S)-2-\alpha$ オキソ-3- α -ヒドロキシ-5-(1,2-ジヒドロキシエチル)-2,5-ジヒドロフランとなる。しかし、ヘキサクロロン酸を用いた商名法で以後同式の化合物を称することにする。

(以下余白)

IIICS59-131978 (6)
(I)式で表わされたことが分かる。



(I)式において、4位と5位の炭素は不齊炭素であるので、(I)式は3-ケトヘキサクロロン酸ラクトン(エノール型)の4つの立体異性体を表わす。この4つの立体異性体の絶対的立体化ア配置およびそれに対応する名稱は以下の通りである。

$C_6(R)C_6(S)-3-\text{ケトヘキサクロロン酸ラクトン}$ (エノール型)：L-アスコルビン酸

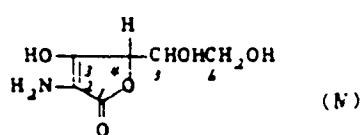
$C_6(R)C_6(R)-3-\text{ケトヘキサクロロン酸ラクトン}$ (エノール型)：D-イソアスコルビン酸

$C_6(S)C_6(R)-3-\text{ケトヘキサクロロン酸ラクトン}$ (エノール型)：D-アスコルビン酸

$C_6(S)C_6(S)-3-\text{ケトヘキサクロロン酸ラクトン}$ (エノール型)：L-イソアスコルビン酸

L-アスコルビン酸(ビタミンC)は3-オキソ-L-グロフラノラクトン(エノール型)とも

スコルバミン酸およびイソスコルバミン酸は(N)式で表わされる。



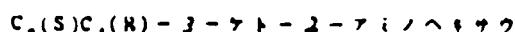
(N)式の化合物は、体系的に2-オキソ-3-アミノ-4-ヒドロキシ-5-(1,2-ジヒドロキシエチル)-2,5-ジヒドロフランと称される。しかし、(I)式の化合物の一覧名と同じように、上記の化合物は、3-ケト-2-アミノヘキサクロロン酸ラクトン(エノール型)の異性体として称することにする。上記の分子中においても同様に4位と5位の2つの不齊炭素が存在するので、上記式により4つの立体異性体が表現され、その絶対的配置は以下の通りである。

$C_6(R)C_6(S)-3-\text{ケト}-2-\text{アミノヘキサクロロン酸ラクトン}$ (エノール型)：L-スコルバミン酸

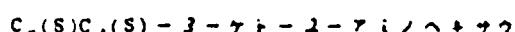
$C_6(R)C_6(R)-3-\text{ケト}-2-\text{アミノヘキサクロ$

1131658-131978 (7)

ロン糖ラクトン(エノール型)：D-イソスコルバミン酸



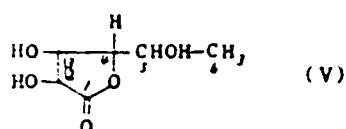
ロン糖ラクトン(エノール型)：D-スコルバミン酸



ロン糖ラクトン(エノール型)：L-イソスコルバミン酸

本明出書中で“アスコルビン酸”および“スコルバミン酸”という用語を用いた場合は、ある絶対的配置を特に明記しない限り、4つの立体異性体全てを包含する。

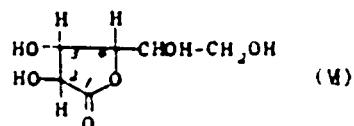
6-デオキシアスコルビン酸は次の(V)式で表わすことができる。



アスコルビン酸と同様に、4位と5位の不齊中心により4つの立体異性体が存在する。(V)式の

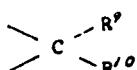
化合物は6-ケトオキシアスコルビン酸と称する。または、3-ケト-6-デオキシヘキサフロン糖ラクトン(エノール型)と称する。

ジヒドロアスコルビン酸およびジヒドロイノアスコルビン酸は次の(VI)式で表わすことができる。



体系的に、上記の化合物は、2,3-ジヒドロキシ-3-(ノ-ヒドロキシエチル)テトラヒドロフラン類として命名される。式からも分るよう、ジヒドロアスコルビン酸には4つの不齊中心が存在する(即ち、2位、3位、4位および5位の炭素)。従つて、本免明の範囲内にある新奇形成阻害物質として活性な、上式(VI)で表わされる2^o(=1/6)の立体異性体ならびにそのエーテル類、アセタール類およびケタール類が存在する。

R⁶が-OR⁷を表わし R⁷とR⁸が一組になつて式



で表わされる基を表わす場合に掲られる構造は、R⁶およびR⁷が共にHでないときはケタールになり、R⁶またはR⁷がHの時はアセタールになる。例えば、R⁶がメチルでR⁷がエチルの場合に掲られる構造は、5位と6位にある開鎖ヒドロキシと形成したメチルエチルケトンのケタールになる。

上式におけるR⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹およびR¹²は、以下の非環式および環式脂肪族ラジカルにより具体化される。エチル、ノ-ブロピル、イソブロピル、sec-ブチル、ローブチル、イソブチル、イソアミル、3-アミル、ノ-アミル、2-アミル、2-ベンチル、3-ベンチル、3-メチル-2-ブチル、2-ヘキシル、ノ-ヘキシル、3-ヘキシル、4-メチル-1-ベンチル、3-メチル-1-ベンチル、3-メチル-2-ベンチル、トリベンチル、3,3-ジメチル-1-ブチル、3,3-ジメチル-1-ベンチル、3,3-ジメチル-1-ブチル、ノ-ブロモエチル、2-ヨードエチル、ベンジル、ノ-クロロベンジル、m-ブロモベンジル、2,4-ジクロロベンジル、p-ニトロベンジル、2-ヨードベンジル、ノ-フルオロベンジル、ノ-メチル-4-トリメチル-

ノーベンチル、2,2,4-トリメチル-1-ベンチル、2,4,4-トリメチル-2-ベンチル、イノオクチル、イソヘプチル、ノ-ヘプチル、2-ヘプチル、3-ヘプチル、4-ヘプチル、2-オクチル、3-オクチル、4-オクチル、2-メチル-2-ブチニル、2-メチル-3-ブロベニル、アリル、メタリル、クロチル、シクロブチル、シクロコブチル、シクロベンチル、シクロヘキシル、3-メチルシクロベンチル、3-エチルシクロヘキシル、シクロヘプチル、4-メチルシクロヘプチル、2-メチルシクロヘプチル、シクロオクチル、ノ-シクロヘキセニル、2-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、2-シクロベンテニル、3-エチル-2-シクロヘキセニル、2-シクロベンテニル、ノ-メチル-2-シクロヘキセニル、ノ-シクロオクテニル、2-ブロモエチル、2-ヨードエチル、ベンジル、ノ-クロロベンジル、m-ブロモベンジル、2,4-ジクロロベンジル、p-ニトロベンジル、2-ヨードベンジル、ノ-フルオロベンジル、ノ-メチル-4-トリメチル-

ルミロメチルベンジル、2-メチル-2-クロロベンジル、4-エトキシベンジル、ビシクロ[2.2.1]ヘプタニル、ビシクロ[2.2.1]ヘプタニルメチル、ビシクロ[2.2.1]ヘプタニルノチル、ビシクロ[2.2.1]オクタニル、ビシクロ[2.2.1]オクタニルメチル、ビシクロ[3.3.0]オクテニルエチル、ビシクロ[3.3.1]ノニル、ビシクロ[3.3.1]ノニルメチル、ビシクロ[3.3.1]ノキニルメチル、ビシクロ[3.3.1]ヘプタニルプロピル、ビシクロ[3.3.1]ヘプタニル、ビシクロ[3.3.1]ヘプタニルメチル、ビシクロ[4.2.0]オクタニル、ビシクロ[4.2.0]オクタニルメチル、3-メチルビシクロ[4.2.0]オクタニル、ビシクロ[4.3.1]シクロドデシル、ビシクロ[4.3.1]シクロデシルメチル、ビシクロ[5.3.0]シクロデセニル、5-メチルビシクロ[5.3.0]シクロドセニル、ビシクロ[3.2.0]ヘプタニル、ビシクロ[3.2.0]ヘプタニルエチル、ビシクロ[3.2.0]

ヘプタニル、ビシクロ[3.2.0]ヘプタニルメチル、ビシクロ[4.1.0]ヘプタニル、ビシクロ[4.1.0]ヘプタニルメチル、ビシクロ[4.1.0]ヘプタニル、ビシクロ[4.1.0]ヘブナニルメチル、2-イソプロピルビシクロ[4.1.0]ヘブテニル、2-イソプロピル-3-メチルゼシクロ[3.1.0]ヘキセニル、ヨーヘンデシル、ロードデシル、ヨートリデシル、ヨーチトラデシル、ヨーベンタデシル、ヨーキサデシル、ヨーヘプタデシル、ヨーオクタデシル、ヨーエイコシル、ヨードコシル、2-テトラデシル、4-テトラデシル、6-テトラデシル、7-テトラデシル、7-ヘキサデシル、8-ヘキサデシル、9-オクタデシル、2-オクチルドデシル、3-7-1-トリメチルドデシル、チラヒドログラニル、1-2-メチルトリデシル、ミリストレイル、ミリストラジル、オレイル、リノレイル、1-2-メチルトリデセン-9-イル等。

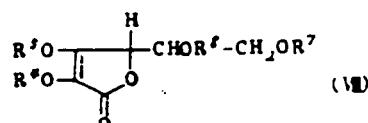
2位と3位の炭素の間に二重結合を形成しR'が-OR⁶を表わす(I)式の化合物は、(V)式



[式中、R⁷およびR⁶は前記と同意義である。]

で表わされるアスコルビン酸もしくはイソアスコルビン酸またはそのケタールもしくはアセタールIC₁、1モルか2モルのアルカリ金属低級アルカノレートなどの塩基および式R⁶ZまたはR⁷Zで表わされるアルキル化剤[R⁶およびR⁷は前記と同意義であり、Zはハロゲン(CI, I, Br)などの脱離基(求核性置換し得る基)またはハロゲン様脱離基(例えばp-トルソル(スルホン酸p-トルエン)またはメシル(スルホン酸メタン))である。]を反応させることにより製造し得る。硫酸ジアルキル(R₂SO₄)も用い得る。塩基とアルキル化剤を共に1モル用いた場合は、上記の反応により3位にエーテル基を形成する。2位と3位に同じエーテル基を有するジエーテル体を製造したい場合は、塩基とアルキル化剤を共に2モル用いる。得

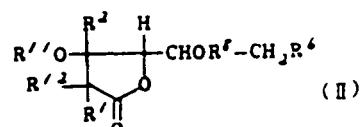
られるジエーテル体は下記(VI)式で表わされる。



[式中、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹は前記と同意義である。]

但し、R⁶とR⁷は同じ基を表わす。]

R⁶とR⁷が違う基であるジエーテル体を製造したい場合は、例えばR⁶がエチルのときは、(II)式



[式中、R¹、R²、R⁴およびR⁶は前記と同意義であり、R¹¹はエチル、R¹²は-OHを表わす。]

で表わされるモノエーテル体を、R⁶Z(R⁶はよりZは前記と同意義を表わすが、但し、R⁶はエチルではない)で表わされるアルキル化剤と1モルの塩基とに反応させる。たとえアルキル化剤を1モルだけ用いて3位だけのエーテル体を製造しよう

としても、3位と5位のヒドロキル基とアルキル化剤との相対的反応性により、ある程度の反応が2位で起こる。かくして形成したモノおよびジエーテル体の混合物は、クロマトグラフィーにより容易に分離し得る。 R' および R'' が共に水素である場合、 R' と R'' のどちらか一方が部分的にアルキル化されて、例えば、3位と5位にエーテル基を有するジエーテル体を形成することも起こり得るが、このようなジエーテル体もクロマトグラフィーで分離できる。

上記の反応は、DMSO（ジメチルスルホキシド）、DMP（N,N-ジメチルホルムアミド）、アセトニトリル、ニトロメタン、ジエチルスルホキシドなどの不活性共通溶媒中で行なう。反応は0°C～50°Cの範囲内の都合の良い温度で行ない得るが、通常は常温で行なう。好ましい塩基はナトリウムメトキシドである。

ある特定の条件下では、特に5位または6位のヒドロキシとの競合反応が起こる場合は、L-アスコルビン酸エーテルをスコルビン酸のよりアセトニド（(VII)式におい

"55-131978 (8)"
て R' と R'' が一體になつ、モノアルキルエーテル基を形成している）をアルキル化し、酸（硫酸、10% HClなど）で処理してエーテル基を除去することにより特に純粋な形で収率を得る。この方法により2位および/または3位のエーテル基に影響を与えることなくエーテル基を選択的に加水分解できる。

出発物質である(VI)式で表わされるエーテルおよびアセタールは、ジキサンまたは他の不活性無水共通溶媒中で過剰のルイス酸（例えば塩化亜鉛など）の存在下で反応させるなどの方法により製造する。

スコルビン酸のエーテル、エーテルおよびアセタールはアスコルビン酸やイソアスコルビン酸のエーテルなどと同じ方法で製造するが、図上の2位の炭素にはアミン官能基が付加しているので3位でしかエーテルが形成されることは自明である。

R' および R'' が共に水素である(I)式の化合物は、アスコルビン酸およびイソアスコルビン酸に関し

て上記で例示した方法を用いてジハイドロアスコルビン酸から直接製造する。

以下に実施例を示して本発明を更に例示する。

実施例1

3-O-ローブチル-L-アスコルビン酸(化合物1)

L-アスコルビン酸(33g)、ナトリウムメトキシド(10.2g)、ヨウ化ローブチル(34.5g)およびDMSO(250ml)から成る組成で反応液を調製し、常温で搅拌して、薄層クロマトグラフィーで反応の経過を追跡した。24時間後、反応液を酢酸エチル(500ml)に加えた。上記の反応で生成する3-O-ローブチル-L-アスコルビン酸が沈殿するのでこれを沪取し、沪液にトルエン(300ml)を加えると、更に沈殿が生成した。得られた沈殿を合し、メタノール(500ml)に溶解した。(重量=約20g)採取した黄色結晶をメタノール(500ml)に溶解し、シリカゲル(45g)を加えて、溶液を真空中に蒸発乾燥した。

クロマトグラムは以下の様にして調製した。シリカ60(100g)をヘキサン(500ml)と混和して、3～5mmの厚さの海砂を乗せたグラスウェル栓を有するガラスのクロマトグラフィーカラムに窒素雰囲気中で充填した。シリカゲルを約20分間を要して緻密に充填し、更に2～4mm厚さの海砂を乗せた。どちらの場合も海砂を平らにすることが必要であった。次に、シリカ-沈殿乾燥混合物をヘキサンと混和し、この混液をカラムの最上部に注意深く加えた。次に、ヘキサンに混和したシリカ(約5g)を加えた。2つの新しいシリカ層が緻密に結まるまで、カラムを再び窒素雰囲気中に15～20分間放置した。最後に、層状の砂(3～6mm厚さ)を加えた。

クロマトグラムは以下の様にして展開した。酢酸エチルとトルエンの3：1混液(8ml)をカラムに通じたが、所望のL-アスコルビン酸エーテルは殆んど溶出されなかつた。次に、酢酸エチルとトルエンの3：1混液(4ml)を溶離液としてカラムに通じると、所望のエーテルの殆どが溶

出した。培養を廃棄させると、3-O-アーブチル-レーアスコルビン酸が得られた。その分析値は以下の如くである。

計算値：C, 51.72; H, 6.94

実測値：C, 51.45; H, 6.72

マス・スペクトル・ピーク：232(分子イオン), 172, 145, 100, 85, 71, 57, 41, 29

上記の方法で製造される他の化合物としては以下のが挙げられる。

3-O-(2,6-ジクロロベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物2)

計算値：C, 46.59; H, 3.61; C8, 21.16

実測値：C, 46.34; H, 3.53; C8, 20.88

マス・スペクトル・ピーク：428(分子イオン), 192

3-O-アリル-L-アスコルビン酸(化合物3)

マス・スペクトル・ピーク：216(分子イオン), 156, 58, 40

2,3-ジ-(O-アリル)-L-アスコルビン

計算値：C, 54.93; H, 4.61; F, 6.68

実測値：C, 55.07; H, 4.42; F, 6.49

マス・スペクトル：284(分子イオン)

3-O-(10-カルボキシロニデシル)-L-アスコルビン酸(化合物8)

計算値：C, 56.66; H, 7.83

実測値：C, 56.93; H, 7.55

マス・スペクトル・ピーク：361(分子イオン), 58

3-O-n-ペントデシル-L-アスコルビン酸(化合物9)

収量＝L-アスコルビン酸/より29から36%

2,3-ジ-(O-n-ペントデシル)-L-アスコルビン酸(化合物10) [モノエーテル体と同じ反応液から単離]

計算値：C, 72.49; H, 11.48

実測値：C, 72.64; H, 11.28

α_D = 1.269

3-O-(2-ブロモエトキシエチル)-L-アスコルビン酸(化合物11)

3-O-アスコルビン酸(化合物4)

計算値：C, 56.55; H, 6.29

実測値：C, 56.12; H, 5.93

マス・スペクトル・ピーク：256(分子イオン), 216, 174, 58, 40

3-O-アードダシル-L-アスコルビン酸(化合物5)

収量=L-アスコルビン酸/より29から57/83%

マス・スペクトル・ピーク：344(分子イオン), 284, 177, 145, 116, 100, 85, 71, 61, 57, 43, 29

3-O-(3-ブロモベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物6)

収量=L-アスコルビン酸/より29から53/86%

計算値：C, 45.24; H, 3.80; Br, 23.15

実測値：C, 45.45; H, 3.57; Br, 22.94

pKa = 1.050

3-O-(3-フルオロベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物7)

収量=L-アスコルビン酸/より23/9から4/94%

計算値：C, 36.72; H, 4.62; Br, 24.43

実測値：C, 36.46; H, 4.92; Br, 24.23

マス・スペクトル・ピーク：328, 326, 382, 58

3-O-(3-フェノキシプロピル)-L-アスコルビン酸(化合物12)

計算値：C, 52.06; H, 5.85

実測値：C, 52.17; H, 5.59

マス・スペクトル・ピーク：310(分子イオン)

3-O-(2-フタルイミドエチル)-L-アスコルビン酸(化合物13)

マス・スペクトル・ピーク：349(分子イオン), 193, 174, 161, 148, 130, 102, 76, 44, 28

3-O-(n-ヘキサデシル)-L-アスコルビン酸(化合物14)

計算値：C, 65.97; H, 1.007; O, 2.397

実測値：C, 66.24; H, 0.984; O, 2.407

確定：pKa = 1.110

赤外線スペクトル：ν 1750, 1695, 1680cm⁻¹

2,3-ジ-(O-n-ヘキサデシル)-L-アスコルビン酸(化合物15)

メコルビン酸(化合物13)

計算値: C, 7.303; H, 1.61; O, 1.136

実測値: C, 7.292; H, 1.68; O, 1.107

赤外線スペクトル: ν 1740, 1680cm⁻¹

確定: 確定できる基盤し

3-O-ローヘプタデシル-レーアスコルビン酸(化合物14)

計算値: C, 6.663; H, 1.021

実測値: C, 6.637; H, 0.993

赤外線スペクトル: ν 1760, 1710, 1695cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク: 414 (分子イオン), 354, 177, 116, 97

3-O-ローオクタデシル-レーアスコルビン酸(化合物15)

計算値: C, 6.726; H, 1.035

実測値: C, 6.742; H, 1.037

赤外線スペクトル: ν 1757, 1705, 1690cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク: 428 (分子イオン), 297, 98, 63

2,3-ジ-ローオクタデシル-レーアスコルビン酸(化合物16)

マス・スペクトル・ピーク: 300 (分子イオン), 240, 147, 125, 89

3-O-(4-クロロベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物22)

計算値: C, 5.193; H, 4.36; C8, 1.179

実測値: C, 5.171; H, 4.21; C8, 1.186

赤外線スペクトル: ν 1755, 1695cm⁻¹

¹³C NMR: δ 17036, 15009, 13562, 13282, 12953, 12942, 11973, 7463, 7106, 6858, 6182

3-O-(3-トリフルオロメチルベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物23)

計算値: C, 5.031; H, 3.92; F, 1.705

実測値: C, 5.059; H, 3.40; F, 1.700

赤外線スペクトル: ν 1755, 1695cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク: 334 (分子イオン), 295, 274, 228, 159

¹³C NMR: δ 17032, 14994, 11985, 7466, 7114, 6862, 6181

3-O-(3-メチルベンジル)-L-アスコ

ルビン酸(化合物24)

計算値: C, 6.407; H, 1.184

実測値: C, 6.434; H, 1.207

赤外線スペクトル: ν 1770, 1680cm⁻¹

3-O-ローアイソル-レーアスコルビン酸(化合物19)

マス・スペクトル: 436 (分子イオン)

赤外線スペクトル: ν 1690, 1705, 1738, 3436cm⁻¹

3-O-ベンジル-レーアスコルビン酸(化合物20)

計算値: C, 58.65; H, 5.30

実測値: C, 58.53; H, 5.60

マス・スペクトル・ピーク: 266 (分子イオン), 228, 166, 148, 107, 91

赤外線スペクトル: ν 1760, 1695cm⁻¹

3-O-(3-クロロベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物21)

計算値: C, 51.93; H, 4.36; C8, 1.179

実測値: C, 51.77; H, 4.10; C8, 1.209

赤外線スペクトル: ν 1740, 1690, 1680cm⁻¹

ルビン酸(化合物24)

計算値: C, 6.000; H, 5.75

実測値: C, 6.021; H, 5.82

赤外線スペクトル: ν 1740, 1685, 1675cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク: 280 (分子イオン), 262, 186, 162, 134, 105, 91

3-O-(2,5-ジメチルベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物25)

計算値: C, 61.22; H, 6.17

実測値: C, 61.02; H, 6.22

赤外線スペクトル: ν 1755, 1695cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク: 294 (分子イオン), 176, 158, 147, 131, 119, 91

3-O-ローオクタデシル-D-アスコルビン酸(化合物26)

計算値: C, 62.3; H, 1.04

実測値: C, 62.1; H, 1.04

赤外線スペクトル: ν 1700, 1755, 2840, 2905cm⁻¹

マス・スペクトル: 428 (分子イオン)

測定: $pK_a = 11.00$

3-O-ヨーオクタデシルイソアスコルビン酸

(化合物27)

計算値: C, 6.73; H, 1.04

実測値: C, 6.68; H, 0.93

測定: $pK_a = 11.60$

マス・スペクトル: 428 (分子イオン)

赤外線スペクトル: ν 1695, 1755, 2840, 2905 cm^{-1}

3-O-(2-メチルベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物28)

計算値: C, 6.000; H, 5.5; O, 3.42

実測値: C, 5.99; H, 5.5; O, 3.41

測定: $pK_a = 10.78$

マス・スペクトル: $M^+ = 280$

赤外線スペクトル: ν 1685, 1750, 3370 cm^{-1}

2-O-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-O-ヨーオクタデシル-L-アスコルビン酸・塩酸塩(化合物29)

計算値: C, 6.33; H, 10.26; N, 2.55;

II編58-131978 (12)

C, 6.644

実測値: C, 6.21; H, 10.13; N, 2.69;

C, 6.66

赤外線スペクトル: ν 1762; 1675 cm^{-1}

測定: $pK_a = 8.0$

マス・スペクトル・ピーク: 513, 482, 415, 344, 260, 201, 160

3-O-(2-クロロベンジル)-L-アスコルビン酸(化合物30)

赤外線スペクトル: ν 1690, 1760 cm^{-1}

マス・スペクトル: 300 (主たるピーク)

実験例2

3-O-ローブチル-5,6-O-ベンジリデン-L-アスコルビン酸(化合物31)

実験例1の方法に従つて、DMSO (150 μl)、
5,6-O-ベンジリデン-L-アスコルビン酸(化合物33) (159)、ナトリウムメトキシド
(3.24 g) およびヨウ化ルーブチル (1059)
で反応液を調製した。これを常温で約7.2時間攪拌して、反応が実質的に完了していることをTLC

で確かめた。反応液を酢酸エチル (600 μl) で抽出し、酢酸エチル抽出液を塩化ナトリウム飽和水溶液 (300 μl) で抽出した。酢酸エチル抽出液を乾燥し、木炭で脱色し、沪過して、沪液から溶媒を真空除去すると、約1/5量の残渣を得た。シリカのプレバラティップTLCは3つの帯を示した (メタノール/トルエン/酢酸エチル (1:2:2) 溶媒系使用)。所望のローブチルエーテルを含む帯をプレバラティップ・プレートからかき取り同じ溶媒系で抽出し、酢酸エチル/トルエン (1:2) 溶媒系を用いて再度クロマトグラフィーにかけて、3-O-ローブチル-5,6-O-ベンジリデン-L-アスコルビン酸を得た。最終収量: 554 mg。

マス・スペクトル・ピーク: 320 (分子イオン), 247, 223, 179, 149, 107, 91, 77, 56, 52, 43, 29, 15

上記の方法により更に次の化合物が得られる。

3-(2-メトキシエチル)-5,6-O-ベンジリデン-L-アスコルビン酸(化合物32)

計算値: C, 5.962; H, 5.63

実測値: C, 5.933; H, 5.49

マス・スペクトル・ピーク: 149, 91, 77, 59, 44, 30, (弱いピーク) 322 (M^+), 281, 247, 223, 174, 15

実験例3

3-O-ローブチル-L-アスコルビン酸(化合物1)の別途合成法

実験例2で合成した3-O-ローブチル-5,6-O-ベンジリデン-L-アスコルビン酸 (約0.59) を氷酢酸 (200 μl) に溶解し、水 (5 μl) を加えて常温で搅拌した。約1.5時間後に出発物質のおよそ50~60%が残つていうことがTLCにより分つた。そこで、反応液を常温で更に4.8時間搅拌すると、ベンジリデン誘導体から3-O-ローブチル-L-アスコルビン酸への変換が実質的に完了していることがTLCにより分つた。生成物を溶離剤としてメタノール/トルエン/酢酸エチル (1:2:1) を用いたプレバラティップ

折およびその他の物理化学的測定法により、実験例1の生成物が異性な点で得られたことが分つた。

実験例4

5.6-0-ベンジリデン-レーアスコルビン酸(化合物33)

アスコルビン酸(89.2g)をp-ジオキサン(400ml)中でスラリー化し、塩化亜鉛(200g)をつくり加え、得られた配合液を1時間攪拌した。次に、ベンズアルデヒド(100ml, 104g)を加えて、常温で約24時間攪拌し、酢酸エチル(500ml)で抽出した。酢酸エチル抽出液を塩化ナトリウム飽和水溶液で3回に分けて抽出した。酢酸エチル溶液を乾燥し、活性化した木炭で処理し、セルローズで脱過した。沪液を濃縮すると、5.6-0-ベンジリデン-レーアスコルビン酸が結晶化した。

計算値: C, 59.09; H, 4.58

実測値: C, 59.19; H, 4.34

収量: 18.3g

上記の方法で調製される他のアセタール類とし

II-58-131978 (13)

ては次の様なものが挙げられる。

5.6-0-(2-フェニルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物34)

計算値: C, 60.4; H, 5.1

実測値: C, 60.3; H, 5.2

赤外線スペクトル: ν 3258, 1735, 1664cm⁻¹

マス・スペクトル: M⁺ = 278

5.6-0-クンダシリデン-レーアスコルビン酸(化合物35)

赤外線スペクトル: ν 1665, 1750, 2840, 2920cm⁻¹

滴定: pK_a = 6.48

マス・スペクトル: M⁺ = 327

実験例5

5.6-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物36)

レーアスコルビン酸(88g)ジオキサン(400ml), 塩化亜鉛(200g)およびアセトン(500ml)で反応液を調整し、常温で1晩攪拌して、トルエン-メタノール(1:1)浴液を

溶離剤として用いてシリカ60カラムで洗浄した。洗浄物(600ml)を採取し、溶媒を真空除去した。アセトンを加え、固形生成物を沪取した。この結晶をトルエンで洗浄して、5.6-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸を回収した。収量: 35.6g。この化合物の物理的性状は以下の如くであつた。

赤外線スペクトル: ν 1670, 1760, 3000, 3250cm⁻¹

滴定: pK_a = 6.10

マス・スペクトル・ピーク: 216(M⁺), 201

上記の方法に従つて、以下のケタールが調製される。

5.6-0-(1-クロロメチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物37)

計算値: C, 43.1; H, 4.4; O, 38.3; Cl, 14.2

実測値: C, 43.4; H, 4.5; O, 38.2; Cl, 13.9

滴定: pK_a = 6.10

マス・スペクトル・ピーク: 250(M⁺), 201

赤外線スペクトル: ν 1470, 1770, 3000

3300cm⁻¹

5.6-0-(1-ベンジル-2-フェニルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物38)

計算値: C, 68.5; H, 5.4

実測値: C, 68.2; H, 5.6

赤外線スペクトル: ν 1660, 1740cm⁻¹

滴定: pK_a = 6.55

マス・スペクトル・ピーク: 369, 354, 277

(以下余白)

実験例6

3-0-0-オクタデシル-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物49)の精製

56-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(20g), ナトリウムメチレート(5g), 奥化物-オクタデシル(32.9g)およびDMSO(400ml)で調製した反応液を常温で約5日間攪拌した。水および酢酸エチルを加え、酢酸エチル層を分取して、その層に含まれる所望の3-0-0-オクタデシルエーテルを実験例1の方法で精製した。クロマトグラフィー後、精製した3-0-0-オクタデシル-56-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(約15.2g)を得た。

計算値: C, 69.2; H, 1.03

実測値: C, 69.2; H, 1.06

赤外線スペクトル: ν 1705, 1760, 2870, 2930 cm^{-1}

測定: $pK_a = 11.4$

測定: $pK_a = 9.80$

マス・スペクトル・ピーク: 302, 287

3-0-(2-エトキシエチル)-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物43)

測定: $pK_a = 10.31$

マス・スペクトル・ピーク: 288, 273

赤外線スペクトル: ν 1695, 1765, 2990 cm^{-1}

3-0-(2-ブロモエトキシエチル)-56-
-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコル-
ビン酸(化合物44)

計算値: C, 42.5; H, 5.2

実測値: C, 42.7; H, 5.4

測定: $pK_a = 10.4$

マス・スペクトル・ピーク: 368, 353

赤外線スペクトル: ν 1700, 1770, 3010, 3300 cm^{-1}

2,3-ジ-0-0-オクタデシル-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物45)

11類記58-131978(14)

マス・スペクトル・ピーク: 468, 453

上記の方法で調製し得る他のケタール酸としては次のようなものが挙げられる。

3-0-(2,3-ジメトキシエチル)-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物40)

測定: $pK_a = 10.59$

赤外線スペクトル: ν 1700, 1750, 3340 cm^{-1}

マス・スペクトル・ピーク: 394, 379

3-0-(2-フタルイミドエチル)-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物41)

測定: $pK_a = 10.32$

マス・スペクトル・ピーク: 389, 374

赤外線スペクトル: ν 1710, 1780, 3220 cm^{-1}

3-0-(エトキシカルボニルメチル)-56-
-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコル-
ビン酸(化合物42)

赤外線スペクトル: ν 1700, 1760, 3000, 3340 cm^{-1}

測定: 測定できる基無し

マス・スペクトル: 721 (M^+)

2,3-ビス-0-(4-シアノブチル)-56-
-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコル-
ビン酸(化合物46)

測定: 測定できる基無し

赤外線スペクトル: ν 1690, 1750, 2260, 3000 cm^{-1}

マス・スペクトル・ピーク: 378, 363

2,3-ビス-0-(4-フルオロベンジル)-56-
-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコル-
ビン酸(化合物47)

赤外線スペクトル: ν 1690, 1765, 2905, 2940, 3005, 3065 cm^{-1}

測定: 測定できる基無し

マス・スペクトル・ピーク: 432, 214

3-0-(4-ニトロベンジル)-56-0-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物48)

測定: $pK_a = 10.10$

マス・スペクトル・ピーク： 331, 336

赤外線スペクトル： ν 1700, 1770, 3360,
3420cm⁻¹

3-O-(3-フェノキシプロピル)-56-

O-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物51)

計算値： C, 61.7; H, 6.3

実測値： C, 59.9; H, 5.7

赤外線スペクトル： ν 1700, 1780, 3380,
3420cm⁻¹

測定： pK_a = 10.7

マス・スペクトル・ピーク： 350, 335

3-O-エオクタデシル-56-O-(1-
クロロメチルエチリデン)-レーアスコルビン酸
(化合物50)

計算値： C, 64.5; H, 9.4; O, 19.1; C₈, 7.1

実測値： C, 64.5; H, 9.5; O, 19.0; C₈, 7.3

測定： pK_a = 9.0

マス・スペクトル・ピーク： 502, 453

赤外線スペクトル： ν 1705, 1775, 2860,

2940, 3040cm⁻¹

3-O-エベンタデシル-56-O-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物51)

赤外線スペクトル： ν 1710, 1780, 2870,
2940cm⁻¹

測定： pK_a = 10.9

マス・スペクトル・ピーク： 426, 411

23-ジ-0-O-エベンタデシル-56-O-
(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸
(化合物52)

測定： 测定する基無し

赤外線スペクトル： ν 1690, 1770, 2885,

2940cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク： 636, 621

3-O-(3-フルオロベンジル)-56-O-
(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物53)

計算値： C, 59.3; H, 5.3; F, 5.9

実測値： C, 59.1; H, 5.1; F, 5.6

3540cm⁻¹

測定： pK_a = 10.79

マス・スペクトル： M⁺ 387

3-O-(4-シアノブチル)-56-O-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物54)

測定： pK_a = 10.40

赤外線スペクトル： ν 1700, 1765, 3000,

3515cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク： 297, 282

3-O-メチル-56-O-(1-メチルエチ-
リデン)-レーアスコルビン酸(化合物55)

赤外線スペクトル： ν 1700, 1770cm⁻¹

¹H NMR： δ 1.3-1.4 (2-重線， 6H), 3.7-4.5 (多重線， 7H)

3-O-エーブチル-56-O-(1-メチル-
エチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物56)

赤外線スペクトル： ν 1700, 1770cm⁻¹

¹H NMR： δ 0.82 (三重線， 3H), 1.3-1.8 (多
重線， 7H)

赤外線スペクトル： ν 1705, 1760, 3320cm⁻¹

マス・スペクトル・ピーク： 324, 309

23-ビス-O-(4-シアノベンジル)-5-
6-O-(1-メチルエチリデン)-レーアスコ
ルビン酸(化合物57)

マス・スペクトル・ピーク： 446, 431

測定： 测定する基無し

赤外線スペクトル： ν 1690, 1780, 2250,
2910, 3000cm⁻¹

23-ビス-O-(2-メチルベンジル)-5-
6-O-(1-メチルエチリデン)-レーアスコ
ルビン酸(化合物58)

赤外線スペクトル： ν 1705, 1780, 2950,
3020cm⁻¹

測定： 测定する基無し

マス・スペクトル・ピーク： 424, 409

3-O-(1-ヒドロキシウニデン)-5-
6-O-(1-メチルエチリデン)-レーアスコ
ルビン酸(化合物59)

赤外線スペクトル： ν 1710, 1780, 2950

3-0-0-ヘキサル-3-0-(1-メチ
エチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物
60)

赤外線スペクトル: ν 1770, 1770cm⁻¹
¹H-NMR: δ 0.6 (2-重線, 6H), 1.3-1.6
(多重線, 12H), 4.65-4.7 (二重線, 1H)

3-0-0-デシル-3-0-(1-メチル
エチリデン)-レーアスコルビン酸(化合物61)

マス・スペクトル・ピーク: 356, 345
赤外線スペクトル: ν 1700, 1770cm⁻¹
¹H-NMR: δ 0.6 (2-重線, 6H), 1.3-1.7
(多重線, 20H), 4.65-4.7 (二重線, 1H)

3-0-(2-メトキシエチル)-3-0-
(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸
(化合物62)

赤外線スペクトル: ν 1700, 1770cm⁻¹
¹H-NMR: δ 1.3-1.4 (2-重線, 6H), 5.38
(一重線, 3H), 3.6-4.72 (多重線, 8H)

実験例7

2-0-ベンジル-3-0-0-ヘキサデシル

マトグラフィーにかけた。TLCで所望の生成物を包有することを確認した分画を合し、溶媒を除去すると、精製した2-0-ベンジル-3-0-0-ヘキサデシル-レーアスコルビン酸を含む黄色のろう状固体物(6.94g)を得た。収率: 6.2%。

計算値: C, 7.099; H, 9.45

実測値: C, 7.105; H, 9.63

¹H-NMR: δ 7.35 (一重線, 5H), 5.1 (一重線, 2H)

マス・スペクトル・ピーク: 490(M⁺), 459, 398, 338, 295, 177, 116, 91

赤外線スペクトル: ν 1761, 1672cm⁻¹

腫瘍は(成長過程の一例として)血管の形成を促進させ、その機構により、充分な血液供給系を形成することができるが、前述した如く、本発明化合物は、血管の形成が行なわれる際に脈管形成因子の作用を阻害する。生体内系におけるこの脈管形成因子阻害作用を表わす1つの方法は次の試験方法によるものである。

-レーアスコルビン酸(化合物63)の調製

3-0-0-ヘキサデシル-レーアスコルビン酸(0.932g)を無水DMP(2.5g)に溶解した。この懸液を、固気搅拌器、電動用の攪拌および攪拌用器具を装備した50ml容の3片付丸底フラスコに入れたNaBH(24.5ミリモル)の無水DMP(1.0g)懸液液に、常温で密閉容器気中ゆっくりと加えた。反応液を25分間(H₂の発生が止まるまで)攪拌すると、3-0-0-ヘキサデシル-レーアスコルビン酸の(2位のヒドロキシの)ナトリウム塩が生成した。塩化ベンジル(0.295g)の無水DMP(2g)溶液を加え、常温で約50分間攪拌した。反応温度を90°Cまで上げ、更に50分間攪拌した。反応液を冷却し、塩化ナトリウム飽和水溶液(食塩水)を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル抽出物を食塩水で洗浄して乾燥した。乾燥した抽出物を木炭で脱色し、沪過して、揮発性成分を真空除去した。得られた黄色のシリカゲルを、溶離剤として酢酸エチル-トルエン(1:9)を用いたシリカゲル60のクロ

脈管形成因子を含むライソゾーム-ミトコンドリアのペレットを、3683モリス肝癌(Morris hepatoma)から調製する。このペレットを1.5%フィコル(ficoll)(7~8ml)で希釈した。この希釈に応じて、ライソゾーム-ミトコンドリアペレットの注射による染色の標準に対して8~10本の屈曲血管(serpentine vessels)が生成するようになる。この際の希釈は、ライソゾーム-ミトコンドリア調製液当りの脈管形成因子の濃度を、誘起される屈曲血管の数が8~10本の範囲内になるように高低させて調整する。

次に、体重2.0~2.2gの1/5 SPF/ND4系雌性マウスの各々の左側を剃毛し、5匹づつの3群に分ける。第1群には、1.5%フィコルで希釈したライソゾーム-ミトコンドリア調製液(0.20cc)を体側に皮下注射した。その後、第2群のマウス各々に、被検化合物を標準溶媒に溶解または懸濁した液(0.5cc)を腹腔内投与する。この際、最初の投与濃度は通常300mg/kgとする。この濃度で毒性が現われる場合は、全てのマウスが生

よ残るようになる用意まで2回剥離を行なう。第2群のマウスには、フィコムで発現したライソゾーム-ミトコンドリア懸濁液(0.2cc)を体側に皮下注射し、感覚(0.5cc)のみを腹腔内投与する。マウスをヨリ時間後に屠殺し、マウスを各々剥毛した方を上にして解剖台の上に横向きに置く。マウスの皮膚を横腹(11.0cm)から背中にかけて直一文字に切り、前肢の後側から両側に背中にかけて切る。皮膚を背に沿って切り、およそ1×2インチの切片ができるようにする。この皮膚を箋子と小刀を用いて結合組織から注意深く切り離す。この皮膚切片を裏返しに置くと、皮膚に接したライソゾーム-ミトコンドリア注入部分が露出する。この皮膚切片を柔やかに平にし、両眼用解剖鏡を用いてライソゾーム-ミトコンドリア注入部分の回りの屈曲血管を観察し、その数を計測する。屈曲血管の数を観察するときは、頭蓋鏡の倍率を全て同じにする(1×)。各々の群の屈曲血管の数の平均を算出する。そして、下式から屈容率(%)を計算する。

$$\text{屈容率} (\%) = \left(1 - \frac{\text{（对照群）}}{\text{（各群群投与群）}} \right) \times 100$$

[式中、10とは屈曲血管の平均数を表わす]

下記の第1表、第2表、第3表に試験結果を示す。

第1表は(1)式においてR⁷とR⁸が共にHである化合物に関するもの、第2表はR⁷とR⁸とでノーメチルエチリデン基を形成する化合物に関するもの、第3表はR⁷とR⁸とがベンシリデン基その他の基を表わす化合物に関するもの。

本発明化合物の1つである3-O-β-D-オクタデシル-5,6-O-(ノーメチルエチリデン)-L-アスコルビン酸の、腫瘍によく脈管形成を阻害する活性について種々の用量を用いて試験した。その試験結果を第4表に示す。

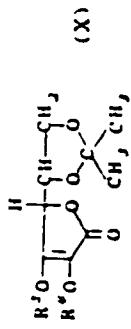
(以下余白)

実験



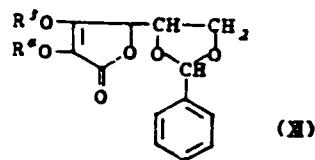
化合物番号	R ⁷	R ⁸	平均屈曲率(%)	対照屈曲率(%)
2	2,6-ジクロロベンジル	H	5.6	150-300
3	ニードラシル	H	3.9	25-300
4	3-ブロモベンジル	H	7.4	300
7	3-フルオロベンジル	H	5.2	2.5
8	10-カルボキシ-9-ヘンツル	H	4.1	2.5
9	ニーベンザシル	H	5.0	300
10	ニーベンザシル	ニーベンザシル	3.8	25-300
11	2-ブロモエチシエチル	H	3.6	300
12	3-フェニキシプロピル	H	6.8	300
13	2-フルオリドエチル	H	5.5	300
14	ニ-ヘキサシル	H	3.1	2.5
15	ニ-ヘキサシル	ニ-ヘキサシル	1.3	2.5-150
17	ニ-オクタシル	H	6.2	25-300
18	ニ-オクタシル	ニ-オクタシル	5.2	2.5
21	3-クロロベンジル	H	4.1	2.5
22	4-クロロベンジル	H	3.6	25-300
23	3-トリフルオロメチルベンジル	H	5.3	25-300
24	3-メチルベンジル	H	5.4	2.5
25	2,5-ジフルバニル	H	4.7	25-300
30	2-クロロベニル	H	5.5	2.5

第 2 表



化合物番号	R'	R''	平均阻害率(%)	波与吸収波(μ/λ)
36	H	H	46	1.0 25-300
39	2-オクタデシル	H	36-62	3.0 25-300
41	2-フルオリドエチル	H	3.0	1.20
42	エトキシカルボニルメチル	H	1.2	1.0
44	2-ブロモエトキシエチル	H	7.1	2.40
45	2-オクタデシル	2-オクタデシル	1.8-6.5	2.5
46	4-シアノブチル	4-シアノブチル	4.7-8.2	2.5-1.50
47	4-フルオロベンジル	4-フルオロベンジル	4.5	3.2.5
48	4-ニトロベンジル	H	4.2-8.5	1.50
49	3-フェニキシプロピル	H	3.6	1.50
51	2-ペニシデシル	H	1.5-8.5	2.5-1.50
52	2-ペニシデシル	2-ペニシデシル	1.5-8.5	2.5-1.50
53	3-フルオロベンジル	H	2.7-8.2	2.5
54	4-シアノベンジル	4-シアノベンジル	3.6-9.1	2.5
56	ノノヒドロキシカブシケン	H	6.7	1.50
57	4-シアノブチル	H	3.7-7.2	3.2.5-1.50
58	メチル	H	1.5	1.0
59	2-ブチ	H	6.0	1.0
60	ローヘキシル	H	4.1	1.0
61	2-オクタデシル	H	4.5	1.0
62	2-ブロモエチル	H	2.5-6.1	1.0-2.40

第 3 表



R'	R''	阻害率(%)
2-ブチル	H	60
2-メトキシエチル	H	31

2.50mg/kg 腹腔内投与

第 4 表

3-O-2-ア-オクタデシル-5-O-(1-メチルエチリデン)-L-アスコルビン酸の評価

腹腔内投与量
(mg/20)

阻害率(%)

240	71.78	=74.5
120	66.78, 75.71	=72.5
60	72.50	=62.5
30	58.38	=48
15	45.17	=32

更に、本発明化合物は転移が生じる際の脳腫瘍成因抑制剤としても効果があることを見い出した。この阻害活性は、諸転移が起こり易く化学療法剤にはあまり反応しないマジソン錠(M109)癌(Madison lung (M109) carcinoma)を用いた人工転移モデルで確実された。この試験は以下のようにして行なう。

マジソン肺転移検定

マジソン錠(M109)癌は、同質遺伝子のBALB/Cマウスにおいて移植可能な系として、保持される。この腫瘍系はメイソン・リサーチ・インスティチュート(Mason Research Institute, Worcester, Mass.)の腫瘍バンクから入手した。

腫瘍転移の研究に際しては、皮下で生育した腫瘍を無菌的に扱い、はさみで少片に切り取み、器やかに室温でトリプシン処理すると、均一な細胞懸液が得られる。これをRPMI-1640培地(M.A. Bioproducts, Walkersville, MD)に接着する。成熟したM109細胞はトリパン・ブルー排除法(Trypan blue exclusion)により決定し、

毎日の用量は血球計 (hemocytometer) により決定する。細胞の数は培養 / 時あたり成長細胞 / $\times 10^6$ 倍に換算する。M/109細胞は正常な雄性 BALB/C マウスに静脈注射する。細胞量はマウス / 四当り 0.2 ml (2×10^6 個の細胞) である。腫瘍細胞を播種する 2 日前に任意に 10 匹のマウスに被検薬剤を腹腔内投与する。対照群には緩衝液 (0.5 ml) を負注射した。1 日の死亡数を記録し、各々の群について平均生存期間を算定する。3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸に関する試験結果を圖 5 及び 6 に示す。陽性対照 (positive control) としてはサイトキサン (Cytosine) を用いた。表中、第 1 カラムは処理薬剤を、第 2 やおよび第 3 カラムは 30 の日または 42 日目の肺当たりの病変の数 (±標準偏差) を示す。

(以下余白)

第 5 表 11 頁 58-131978 (19)

処理薬剤	肺当たりの病変数 (平均 ± 標準偏差)	
	30 日目	42 日目
エマルホア (Emulphor) (対照)	158 ± 46	206 ± 18
サイトキサン (30 mg/kg)*	24 ± 1.5	---
3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸 (35 mg/kg)	18 ± 1.2	186 ± 1.3
3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸 (35 mg/kg) + サイトキサン (30 mg/kg)	1.6 ± 0.6	毒性

* サイトキサンは 12 日目から 42 日目に腹腔内投与した。

上記の実験における肺転移の成長率と数は通常以下であった。もつと速く発達する群の病変について更に試験するには、新しい移植可能系を用いた。圖 6 表にこの実験の結果を示すが、ここでは対照としてアスコルビン酸を用いた。

第 6 表

処理薬剤**	肺当たりの病変数 (平均 ± 標準偏差)	
	16 日目	
エマルホア (対照)	6.8 ± 1.04	
アスコルビン酸 (100 mg/kg)	3.38 ± 9.6	
3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸 (30 mg/kg)	1.07 ± 3.4	
3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸 (100 mg/kg)	1.30 ± 1	

** 薬剤は全て 0 日目から毎日投与した。

本発明で有用な化合物は、比較的無毒性で、マウスにおける LD₅₀ は 400 または 1000 mg/kg 以上である。

脈管形成または血管新生に関する 2 番目の実験は、分化した腫瘍が非分化（血管新生化）するのに要する時間に基くものである。炎症応答は腫瘍の成長を促進し、遅延期 (lag phase) を識別させる。この実験においては、ラットの背中の剃毛

部分に、被検薬剤を (ICFA 投与の 30 分前に) ICFA (incomplete Freund's adjuvant) とインディア (India)・インクと共に皮内注射して、注射部位をはつきりさせる。被検薬剤を投与しその 30 分後に ICFA を投与するのを 1 日 2 回、3 日間行なつたのち、はつきりした注射部位の外周に腫瘍を移植する。週に一度の割で 4 週間、動物の体重と腫瘍の大きさ (長さ + 幅 / 2) を測る。非分化の腫瘍としてモリス肝癌 (5 / 23D) を用いた。

上記の実験方法によれば、3-0-0 オクタデシル-レーアスコルビン酸 (10 ~ 300 mg) を 1 日に 1 回または 2 回経口的に投与すると、非分化の腫瘍の成長を抑制するか、その誘導を 4 ~ 7 日まで遅らせた。ICFA (0.5 cc) もそれぞれのラットに 1 日に 1 回か 2 回皮下投与した。

3 番目の実験は、上記 (1) 式の化合物の脈管形成阻害剤としての活性を示すためのものである。この実験方法とは、コラーゲン関節炎測定法であり以下のようにして行なう。

タイプ I のコラーゲンをストラヴィツチとニニ

Andriopoulos et al., *Arch Rheum.*, 19, 612 (1976)] を用いた受動的血球凝集反応法により測定する。タイプ I のコラーゲンに対する細胞回答または遷移型過敏症はラジオメトリック・イヤー・インダツクス・アッセイ (radioactive ear index assay) [Krestin, *Immunology*, 33, 561, (1977)] により測定する。実験において、タイプ I コラーゲンによる免疫のために起こる骨質痛および震剛の効果は、それぞれの耳から 2~3 匹選んで後肢のラジオグラフを測定して決定する。陰性対照 (negative control) として何匹かのラットには ICFAだけを注射した。

上記の方法に従つて行なつたある実験においては、3-0-メオクタデシル-5-6-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸および3-0-メオクタデシル-レーアスコルビン酸を被検薬剤とし、経口的に用量50mg/kgを投与した。前者の化合物はタイプⅡのコラーゲンの注射により誘起される後肢の肥大を約50%抑制し、後者の化合物は後肢容積をICFA処理ラット

(陰性対照)の場合に比して実質的に変わることはなかつた。3-0-0-オクタデシル-レーアスコルビン酸を用量50mg/kgで用いた別の実験では、後肢容量は、タイプⅡのコラーゲンで免疫してあるが被検薬剤では処理していないラット(陽性対照)に比して、90~100%低くなつた。3-0-0-オクタデシル-3,6-0-(1-メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸と同じ用法で用いると、後肢容量は陰性対照と差異がなかつた。

3-0-0-0-オクタデシル-レーアスコルビン酸をもつと低用量で用いた場合、1/25摩/升では後肢容積を約25%軽減させ、1/2.5摩/升では後肢容積は対照と差異がなかった。

23-ビス-0-(エオクタデシル)-L-アスコルビン酸を用量/2.5および2.5mg/kgで用いても後肢容量を軽減させる(33~67%)。3-0-(エトトリフルオロメチルベンジル)-L-アスコルビン酸を2.5mg/kgで用いても、後肢容量はICFA対照の場合と実質的に同じであつ

1

次に掲げる化合物は、用量 / 5 mg / kg を経口投与したときタイプ I のコラーゲン注射により誘起される後肢肥大を実質的に軽減させた。3-0-
モノヘプタデシル-レーアスコルビン酸、2,3-
0-ビス(4-シアノベンジル)-5,6-(1-
メチルエチリデン)-レーアスコルビン酸、3-
0-(4-シアノブチル)-5,6-(1-メチル
エチリデン)-レーアスコルビン酸および5,6-
0-(1-ヨーデシルエチリデン)-レーアスコ
ルビン酸。

本発明化合物を製薬形成固形剤として利用する際には、非経口的にも経口的にも投与してよいが経口投与が好ましい。経口用剤としては、(1)式の化合物の適量をノ 頃以上の汎用される製薬上許容される賦形剤、例えばデンブンなどと混台し、ノ カプセル中にノ 用量またはその数分のノ を含むようにゼラチンカプセルに入れておく。または、葉物、デンブン、滑沢剤およびその他の所望に応じた製薬上許容される賦形剤の混合物を、活性成

分をそれぞれが100～300等含むように飼料に打散する。飼料には、1用意より少量か数分の1量を用いる場合は、割離をつけるとよい。序盤段投与用には、薬物を層成または懸濁液として投与する。どの投与形態をとるにしても、各々の薬物単位用量は、該層成を困難するのに有効なだけの量の上記(1)式の化合物を含むようにする。哺乳動物における1日の適用量は、哺乳動物の体重当たり10～100mg/kgの範囲内とする。

特許出願人 イーライ・リリー・アンド・カンパニー

代理人 弁理士 岩崎 光^亮_{かげ}名



第1頁の続き

登録記号	厅内整理番号
(C 07 D 407/04 307/00 317/00)	7043-4C 7432-4C —
(C 07 D 405/12 307/00 209/00)	7043-4C 6807-4C —
(C 07 D 405/14 307/00 317/00 209/00)	7043-4C 7432-4C 6807-4C

①発明者 ラツセル・エル・パートン
アメリカ合衆国インディアナ州
インディアナポリス・ベルーガ
・レイン・アブト1-B3475番地

②発明者 ジエス・アール・ビューリー¹
アメリカ合衆国インディアナ州
インディアナポリス・ホイト・
アベニュー4306番地

③発明者 ステファン・エル・ブリッグス
アメリカ合衆国インディアナ州
クレイトン・ルーラル・ルート
#1ボックス483

④発明者 ジョセフ・ダブリュ・パートン
アメリカ合衆国インディアナ州
グリーンフィールド・アール・
アール#4ボックス360